Aus der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning

Agarelektrophoretische Studien an Leberextrakten

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität

zu

Erlangen-Nürnberg

Vorgelegt von

GERDI GAST

aus Nürnberg

1964

1964 # 84

Dekan: Prof. Dr. G. THEISSING

Referent: Prof. Dr. N. HENNING

Tag der mündlichen Prüfung: 31. 7. 1964

Sonderdruck

Zeitschrift für

GASTROENTEROLOGIE

Klinik und Praxis der Verdauungskrankheiten

Herausgeber: N. Henning, Erlangen, Krankenhausstraße 12

Schriftleitung: K. Heinkel und H. Schön †, Erlangen, Krankenhausstraße

Verlag: Karl Demeter, Gräfelfing/München, Würmstraße 13

Jahrgang 2 (1964) Heft 3 148—156

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning)

Agarelektrophoretische Studien an Leberextrakten

Von H. GÖTZ, F. SCHEIFFARTH und G. GAST

Die Kenntnis über den Eiweißaufbau von Organen gewinnt für klinische Fragestellungen mehr und mehr an Bedeutung. So versteht man, Beziehungen aufzustellen zwischen pathologischen Veränderungen an Parenchymeiweißen und der Entstehung einer Dysproteinämie im Serum, sei es auf dem Boden entzündlich-degenerativer und durch Permeabilitätsstörungen bedingter Prozesse oder infolge hypothetischer Autoimmunisierungsvorgänge. Dabei erhebt sich immer wieder die Frage nach der Vergleichbarkeit bzw. Identität von Serum- und Organproteinen ein und derselben Spezies. Neuere Untersuchungsmöglichkeiten, insbes. auf immunologischen Prinzipien fußend, haben gezeigt, daß in pathologisch veränderten Seren Komponenten auftreten, die entweder als Sonderformen eines gestörten Eiweißstoffwechsels, z. B. bei malignen Erkrankungen, oder als abgewandelte oder permeierte Parenchymproteine bei entsprechenden Organschäden aufzufassen sind.

Kombinierte Verfahren mit Agarelektrophorese und Fermentnachweis konnten zeigen, daß die fermentaktiven Fraktionen bestimmter Organe den entsprechenden Komponenten im Serum gleichkommen, wobei offenbar für verschiedene Organe verschiedene Proteine reserviert sind *[21,22]*.

Untersuchungen zur Aufklärung der Dysproteinämie bei Leberparenchymschäden haben ergeben, daß der einfache Zusatz von Leberextrakt zu einem Normalserum Proteinpherogramme hervorruft, die den Serumeiweißbildern bei Leberparenchymerkrankungen weitgehend entsprechen *[1]*. Daraus wurde z. B. der Schluß gezogen, daß möglicherweise Zerfallsprodukte des geschädigten Leberparenchyms an der Entstehung der Dysproteinämie maßgeblich beteiligt seien.

In jüngster Zeit mitgeteilte Analysen tierischer und menschlicher Leberextrakte *[9,10,16,23]* dienten bereits zur Aufklärung einzelner Leberproteine, insbesondere immunologisch bedeutsamer Subfraktionen im β/γ-Bereich mit Hilfe immunologischer sowie autoradiographischer Methoden *[16]*.

In früheren eigenen Studien *[2,4,13,14]* wurde versucht, die Frage einer Identität von Serum- und Organproteinen bzw. die Frage nach direkten Beziehungen zwischen spezieseigenen Eiweißkörpern mit modernen immunologischen Methoden erneut aufzugreifen. In Ergänzung zu diesen Analysen sollen in dieser Arbeit nochmals Untersuchungen mitgeteilt werden, die sich mit der Charakterisierung von Leberproteinen befaßten.

Material und Methode

1. *Untersuchungsgut:* Insgesamt 25 menschliche Leberextrakte wurden untersucht. Auf Grund der histologischen Befunde handelte es sich um 8 unveränderte Organe, 7 Leberzirrhosen, 6 chron. Leberparenchymschäden, 3 Metastasenlebern (bei primärem

Melanoblastom, bei Mammakarzinom sowie bei diffusem Alveolarkarzinom der Lunge sowie 1 Hepatitis.*)

2. *Versuchsanordnung:* Von jedem Sektionspräparat wurde der Leberextrakt vergleichsweise mit einem Humanserum elektrophoretisch im Agargel getrennt und färberisch, mit Fermentmethoden sowie immunologisch differenziert.

3. *Methodik:*

a) *Aufbereitung der Organe:* Zunächst wurde das frische, von Bindegewebe befreite Sektionspräparat etwa 10 Std. lang gewässert, in kleine Stücke geschnitten, im Multimix mit der 5fachen Menge Aqua dest. zerkleinert und danach 10 Min. lang bei 2500 U/Min. zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, das Sediment 1 : 1 mit physiol. Kochsalzlösung versetzt und nochmals zertrümmert. Der so gewonnene Extrakt wurde schließlich bei 10 000 U/Min. 30 Min. lang kühl zentrifugiert. Nun wurde der Überstand durch Dialyse*) gegen 20%iges Kollidon im Kühlschrank bei +4° C auf eine mindestens 2–3%ige Eiweißlösung eingeengt. Dieser Organextrakt wurde dann den Analysen unterworfen.

b) *Einfache Elektrophorese im Agargel mit Färbemethoden:* Die Leberextrakte wurden zunächst mit der einfachen Elektrophorese im Agargel in typischer Weise aufgetrennt. Zur Charakterisierung der einzelnen Komponenten wurden anschließend folgende Färbungen und Fermentreaktionen vorgenommen: Proteinfärbung mit Amidoschwarz 10 B *[3,6,18]*, Kohlenhydratfärbung *[6,12,18,19]*, Lipoidfärbung mit Sudanschwarz B *[3,6]*, Coeruloplasmindarstellung *[11,12,17]*, Nachweis der alkalischen Phosphatase *[15]* mit Phenolphthaleindiphosphat und Glykokollpuffer.

c) *Immunoelektrophorese:* Mit dem Leberextrakt wurden weiterhin immunoelektrophoretische Analysen gegen Antihumanserum**) vorgenommen. Über methodische Einzelheiten der Immunoelektrophorese nach *Grabar* und *Williams [5,6,7,20]* wurde bereits ausführlich berichtet *[3]*.

Ergebnisse

Die in der vorliegenden Arbeit gewählte Nomenklatur entspricht den herkömmlichen Serumeiweiß-Bezeichnungen, d. h. es wird eine im Agar dargestellte Komponente der analysierten Leberextrakte mit der vergleichbaren Fraktion eines gleichartig aufgetrennten Humanserums bezeichnet. Damit soll nur die elektrophoretische bzw. immunologische Verwandtschaft oder sogar Identität der verglichenen Komponenten bewiesen werden; es ist damit nicht beantwortet, ob derartige Proteine auch in ihren chemischen, physiologischen und biologischen Eigenschaften identisch sind.

1. *Agarelektrophorese:*

Bei einfacher Agarelektrophorese und Proteinfärbung konnten in den Extrakten normaler, d. h. histologisch unveränderter Leber prinzipiell 9 Komponenten abgegrenzt werden. Dabei imponierten eine stark angefärbte Fraktion im β_1-Bereich bzw. ein Proteinkomplex, der sich von der Auftragsstelle kathodenwärts ablagerte, ferner ein Eiweißkomplex im α_2-Bereich, der – wie durch langzeitig aufgetrennte Organextrakte festzustellen war – vielfach 3 Unterkomponenten abgrenzen ließ. Weiterhin zeigte sich eine verhältnismäßig schwächer anfärb-

*) Die Organpräparate und die histologischen Befunde verdanken wir dem Patholog. Institut der Univ. Erlangen (Direktor: Prof. Dr. med. E. Müller).

*) Dialysiermembranschläuche der Fa. Membranfilter-Gesellschaft Göttingen.

**) Antihumanserum von der Ziege, Travenol-International, München.

bare, aber scharf begrenzte Albuminfraktion sowie eine relativ gering konzentrierte γ-Globulinfraktion, die meist auch 2 Komponenten unterscheiden ließ. Darüber hinaus wurden zumeist eine schmalbasige, schwach anfärbbare α_1-Fraktion und mindestens 1 Albuminvorfraktion aufgezeigt. Bei hochkonzentrierten Leberextrakten (Gesamteiweiß 6—8 g%) konnten außerdem bis zu 4 Albuminvorfraktionen nachgewiesen werden, die in Fällen weniger hoher Konzentration nur noch als relativ lange, zarte, undifferenzierte Schliere in Erscheinung traten. Bei derartig hohen Konzentrationen waren aber die oben beschriebenen Komponenten nicht mehr einwandfrei abzugrenzen (Abb. 1).

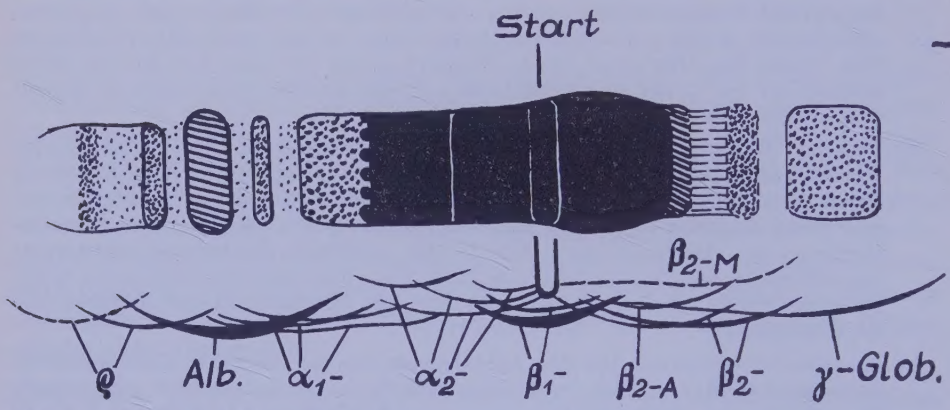

Abb. 1: Halbschematische Darstellung der agarelektrophoretischen Trennergebnisse eines menschlichen Leberextraktes. Oben einfache Agarelektrophorese nach Färbung der darstellbaren Fraktionen mit Amidoschwarz 10 B, unten Immunoelektrophorese gegen Antihumanserum.

Bei grober Übersicht der agarelektrophoretisch gewanderten und proteingefärbten pathologischen Leberextrakte lassen sich folgende Besonderheiten herausstellen:

Von zirrhotisch veränderten Organen wurde im allgemeinen ein wenig eiweißhaltiger Extrakt gewonnen, und selbst mehrfache Einengung erbrachte nicht die gewünschte Konzentration. Dabei fiel auf, daß selbst die sonst stark hervortretende Fraktion des β-Bereiches auch hier außerordentlich schwach ausgeprägt war (Abb. 2).

Lebergewebe mit zahlreichen Karzinommetastasen zeigten auch einen relativen Gesamteiweißverlust, wobei vor allem die γ-Fraktion, aber auch die im Albuminbereich wandernde Komponente in ihrer Konzentration stark vermindert waren. Der um die Auftragsstelle im β-Bereich darstellbare Komplex trat deutlich hervor.

Im Falle einer Hepatitis ergab sich bei verminderter Darstellung der Albumine und γ-Globuline ein deutliches Hervortreten der α_2-Proteine (Abb. 2).

Bei der Gruppe „chronischer Leberparenchymschäden" wurden überraschenderweise nur wenig charakteristische Abweichungen gegenüber einem Normalextrakt faßbar. Es waren hier die Albumin- sowie die γ-Globulinkonzentration variabel. Eindeutige qualitative Abweichungen der Extrakte untereinander wurden nicht beobachtet.

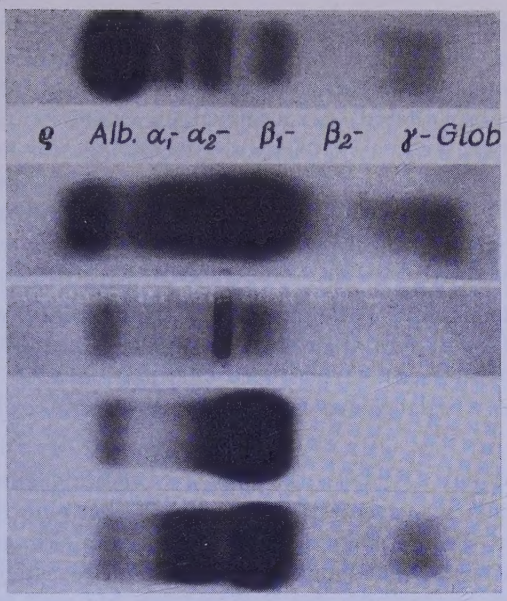

Abb. 2: Agarelektrophoretische Ergebnisse verschiedener Leberextrakte im Vergleich zu einem Normalserum vom Menschen nach Amidoschwarz-Färbung.
Die Albumin-Vorfraktionen sind nur bei hohen Eiweißkonzentrationen reproduzierbar nachzuweisen.

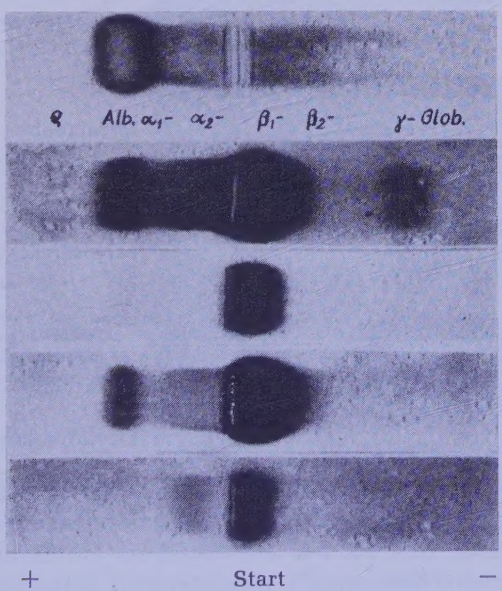

Abb. 3: Darstellung der Glykoproteide von menschlichem Serum und verschiedenen Leberextrakten nach Trennung im Agargel.
(Schwarz-Weiß-Reproduktion der Rot-Violett-Farbreaktion im Original).

Die Kohlenhydratfärbung ergab, daß praktisch alle mit Amidoschwarz darstellbaren Komponenten auch mit Perjodsäure-Fuchsin deutliche Reaktionen zeigten. Dies galt besonders für den im β_1-Bereich gelagerten stark konzentrierten Proteinkomplex wie auch für die γ-Globuline und in einzelnen Fällen für die Albuminvorfraktionen bei hochkonzentrierten Extrakten. Hier ließen sich bei Vergleich pathologischer Extrakte mit einem gesunden Organ vorwiegend quantitative Unterschiede aufzeigen. Es ist darauf hinzuweisen, daß die bei akuter Hepatitis beobachtete Anreicherung der Proteine im α_2-Bereich auch hier eine besonders intensive Farbreaktion aufwies (Abb. 3).

Bei Lipoidfärbung normaler und pathologischer Organextrakte wurden nur schwache Farbreaktionen im Bereich einer schnell wandernden α_1-Fraktion bzw. eines α_2-Komplexes nachgewiesen. Verwertbare quantitative oder etwa qualitative Abweichungen bei Vergleich der verschiedenen Organextrakte wurden nicht beobachtet.

Bei den Untersuchungen auf Oxydase-Aktivität der verschiedenen Extrakte wurde unter den gegebenen Voraussetzungen in allen Fällen eine relativ deutliche Reaktion objektiviert. Die stärksten Reaktionen ergaben sich, gemessen an der Intensität der Braunfärbung, jeweils im Bereich der Auftragsstelle. Es zeigte sich aber regelmäßig eine Ausbreitung der Farbreaktion bis weit in den α-Bereich (Abb. 4). Auffällige Abweichungen ließen sich im Vergleich der verschiedenen Analysen nicht nachweisen.

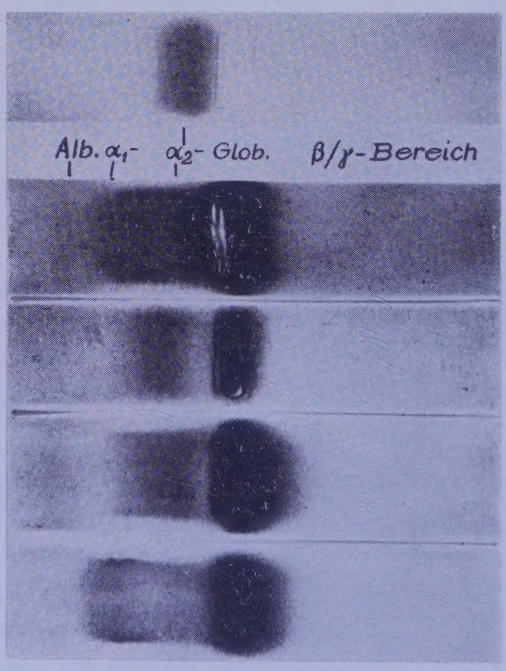

Abb. 4: Darstellung der oxydaseaktiven Komponenten (Coeruloplasmin) im Serum und in verschiedenen Leberextrakten.
(Schwarz-Weiß-Reproduktion der Original-Gelb-Braun-Farbreaktion).

Der Nachweis alkalischer Phosphatase ergab bei unveränderten Organen regelmäßig eine intensive Farbreaktion im Bereich des Auftragsstriches, gering auch anodisch vom Start. Von den pathologischen Organextrakten war bei Zirrhosen fast durchwegs, trotz des geringen Eiweißgehaltes, eine intensive Farbreaktion im Bereich des Auftragsstriches und einwandfrei bis weit in den Bereich der α_2-Fraktionen nachzuweisen. In zwei Fällen reichten die Farbreaktionen vom Start auch gering kathodisch (Abb. 5).

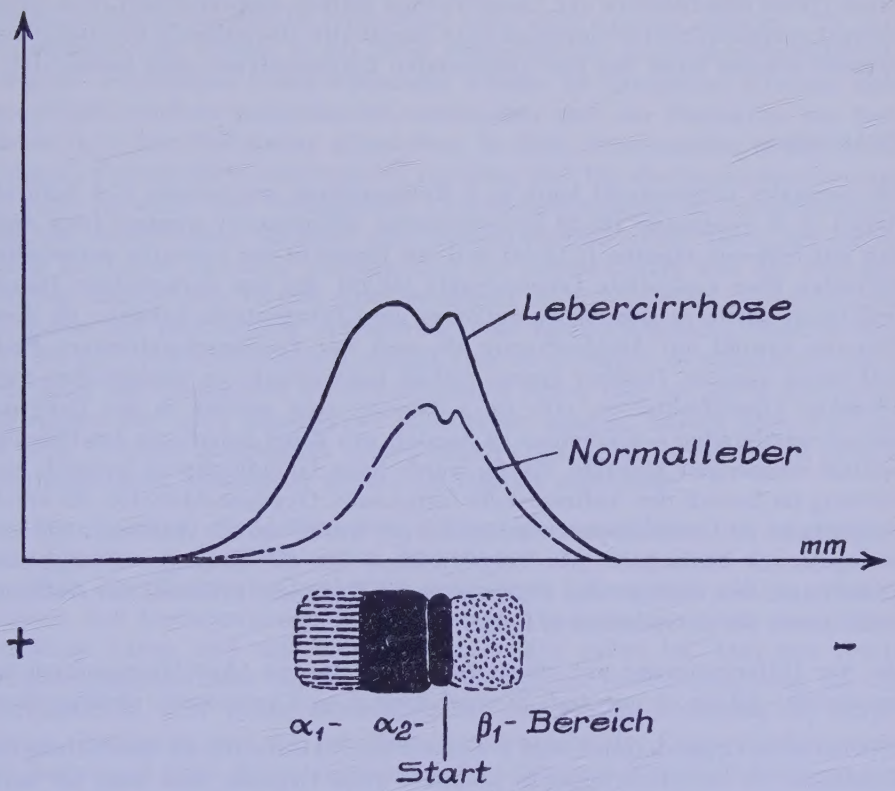

Abb. 5: Nachweis der alkalischen Phosphatase in Leberextrakten.

Schwarz: Häufigster und intensivster Nachweis der alkalischen Phosphatase; gestrichelt: häufigste weitere Ausdehnung der alkalischen Phosphataseaktivität; gepunktet: Mitreaktionsbereich, möglicherweise als Folge eines Diffusionseffektes von der Auftragestelle aus.

2. *Immunoelektrophorese:*

Immunoelektrophoretisch konnten an normalem Leberextrakt im wesentlichen wieder 1 Albuminfraktion, 2 bis 3 α_1-, 2 bis 4 α_2-, 1 bis 2 β_1-, 3 β_2-Fraktionen und 1 γ-Globulinfraktion dargestellt werden. Darüber hinaus waren auch im Leberextrakt histologisch unveränderter Organe bei hoher Konzentration bis zu 3 Albuminvorfraktionen sowie eine β_2-Fraktion, die mit der im menschlichen Serum nachweisbaren β_2-$_M$-Komponente (schweres Makroglobulin) (Abb. 1) vergleichbar ist.

Bei den untersuchten pathologischen Leberextrakten waren quantitativ unterschiedliche Präzipitationsergebnisse zu erzielen: so zeigten sich bei Leberzirrhose vielfach die um die Auftragsstellen gelagerten Linien relativ stärker auspräzipitiert, während Albumin und γ-Globulin in diesen Fällen weniger deutlich dargestellt waren. Die β_2-M-Fraktion war in allen Fällen mit geringerer Eiweißkonzentration nur andeutungsweise oder überhaupt nicht nachweisbar. Sie trat dagegen bei den Extrakten von Lebern mit chronischen Parenchymschäden deutlicher hervor. In dem Fall mit akuter Hepatitis waren die im α_2-Bereich darstellbaren Linien einschließlich der Lipoidfraktion stärker auspräzipitiert. Von einem optimal auspräzipitierten Normalextrakt quantitativ abweichende Präzipitationssysteme wurden unter den hier aufgezeigten Einzelanalysen nicht beobachtet.

Diskussion

Ein normaler Leberextrakt kann in 9 Komponenten mit jeweils 2–3 Subfraktionen, d. h. insgesamt 18–20 Einzelproteine, differenziert werden. Dies deckt sich mit früheren eigenen *[2,13,14]* und mit jüngst in der Literatur mitgeteilten Befunden über analysierte Leberextrakte *[10,23]*. Bei den dargestellten Hauptfraktionen dürfte es sich im wesentlichen um Glykoproteide handeln, da diese Proteine sowohl mit Amidoschwarz als auch mit Fuchsinschwefelsäure Farbreaktionen ergeben. Darüber hinaus enthält Leberextrakt im wesentlichen zwei schwache Lipoidfraktionen, eine im α_2-Bereich, eine weitere in der Zone der schnell wandernden α_1-Globuline. Es handelt sich dabei jedoch um das Ergebnis optimal eingeengter Extrakte. Häufig wurde beim Lipoidnachweis lediglich eine Färbung im Bereich der Auftragsstelle festgestellt. Oxydase-Aktivität, die erfahrungsgemäß an Coeruloplasmin gebunden ist, wurde um die Auftragsstelle und im α_2-Bereich beobachtet. Als Trägerfraktion für die alkalische Phosphatase kommt nach den vorliegenden Ergebnissen ein Komplex im Gebiet der Auftragsstelle sowie der α_2-Globuline in Frage.

Bei der Differenzierung mit einem Anti-Normalserum (Anti-Humanserum-Immunserum) gelang es uns auch diesmal, eine β_2-M-Komponente nachzuweisen.

Wie bei allen Organanalysen sind 3 wesentliche Faktoren für die Beurteilung der Ergebnisse zu berücksichtigen. In praktisch allen Organen muß auch bei sorgfältiger Wässerung und Aufbereitung mit Beimengungen von Blut gerechnet werden. Bei der Verwendung von Sektionsmaterial sind autolytische Veränderungen möglich. Fett- und bindegewebige Anteile lassen sich trotz vorheriger subtiler Präparation vom eigentlichen Parenchym nicht restlos entfernen. Diese Störfakten sind nicht völlig auszuschließen, auch nicht durch immunologische Absorptionsverfahren mit Serum oder durch spezielle Sedimentations- bzw. Fraktionierungsverfahren. Die erwähnten Argumente, die zweifellos zur Vorsicht bei Schlußfolgerungen aus den agarelektrophoretischen, färberischen und immunologischen Ergebnissen mahnen, haben jedoch untergeordnete Bedeutung, wenn man bedenkt, daß die untersuchten Leberextrakte von den Resultaten menschlichen Serums deutlich abweichen, d. h. für sich charakteristische Kriterien in qualitativer und quantitativer Hinsicht besitzen. Dies gilt sowohl für die Befunde bei einfacher Agarelektrophorese als auch für die Ergebnisse mit der Immunoelektrophorese.

Zur Frage der Identität einzelner Eiweißfraktionen von Leberextrakt mit menschlichen Serumproteinen wurde bereits Stellung genommen *[13,14]*. Eine Diskussion über Beziehungen zwischen permeierten Leberproteinen und der Entstehung einer Dysproteinämie erscheint auf Grund der vorliegenden Befunde nicht ohne weiteres möglich. Derartige direkte Beziehungen müssen u. E. eher abgelehnt als für möglich gehalten werden, da die bei chronischen Leberparenchymkrankheiten im Patientenserum stark angereicherten β_2-M- und γ-Fraktionen im Leberextrakt weder unter normalen Umständen noch unter krankhaften Bedingungen auffallen; sie sind im Hydrolysat sogar relativ gering enthalten. Die nach unserem heutigen Wissen in der Leber wahrscheinlich gebildeten Eiweißkörper, Albumin, α-Globuline sowie Fibrinogen werden im Parenchym offenbar nicht gespeichert, sondern wahrscheinlich unmittelbar nach der Produktion zur Peripherie, d. h. dem Blutplasma abgestoßen, da diese Komponenten in den untersuchten Leberextrakten relativ gering vertreten sind. Für die Fermentbestimmung im Agar ist unter den vorliegenden Versuchsbedingungen zu berücksichtigen, daß ein weitgehender Schwund der Fermentaktivität allein durch den erheblichen Zeitfaktor zwischen Aufbereitung der Organextrakte und der Fermentreaktion bedingt sein konnte. Erwähnenswert ist, daß in allen Leberextrakten, normalen wie pathologisch veränderten, eine hämoglobinreiche Fraktion vom Typ der β_1-Globuline besonders auffällt. Hier ist es schwer zu entscheiden, ob es sich dabei um Hämoglobin des zirkulierenden Blutes oder um ein in den Parenchymzellen der Leber abgelagertes Hämoglobin handelt. Gerade diese Fraktion ist beim Vergleich histologisch unveränderter Organe mit verschiedenen Extrakten pathologisch veränderter Lebern am meisten wandelbar.

Bei den Extrakten von Leberkranken fielen im wesentlichen nur quantitative Abweichungen in der Relation der darstellbaren Gewebsproteine auf. Die oben erwähnte Eiweißarmut bei zirrhotisch veränderten Lebern muß wohl so gedeutet werden, daß bindegewebige Wucherungen die Parenchymsubstanz weitgehend verdrängt haben und daß Bindegewebssubstanz selbst im Agar nur wenig Wanderungsmöglichkeit besitzt. Hierfür spricht die Proteinablagerung um die Auftragsstelle. Auf solche Schwierigkeiten hat bereits *Hartmann [8]* hingewiesen. Vergleicht man die Relationsverschiebungen der Organextraktproteine mit denjenigen eines Patientenserums unter adäquaten Krankheitsbedingungen, so kann man feststellen, daß wenigstens bei der β-Globulinfraktion gewisse Beziehungen zu bestehen scheinen. Mit einem Schwund der β-Fraktion im Organextrakt kommt es offenbar zur Anreicherung dieser Fraktion im Serum. Für die β_2-M- sowie für die γ-Fraktion konnten derartige Korrelationen jedoch nicht aufgezeigt werden. Ebensowenig konnten die ausgeprägten Hypalbuminämien mit dieser Versuchsordnung geklärt werden. Die Humanpathologie bietet für solche Fragestellungen prinzipielle Schwierigkeiten, weil jeweils nur ein Zustand bzw. eine bestimmte Phase in einem Krankheitsgeschehen erfaßt und keine Verlaufsuntersuchung vorgenommen werden kann.

Zusammenfassung: Extrakte histologisch unveränderter und pathologisch veränderter Lebern wurden agar- und immunoelektrophoretisch unter Verwendung zusätzlicher Färbe- und Fermentmethoden verglichen. Die Charakterisierung der Proteine dieser Leberextrakte erfolgte durch Vergleich mit Serumproteinen des Menschen. Die in den Substraten histologisch normaler Organe nachgewiesenen

Proteine zeigen im einzelnen weitgehende Identität mit den artgleichen Serumproteinen. Die Leber-Organextrakte lassen für sich deutliche, vor allem quantitative, aber auch einzelne qualitative Unterschiede erkennen. Bei den Extrakten aus pathologisch veränderten Lebern fielen im wesentlichen quantitative Abweichungen in der Relation der darstellbaren Gewebsproteine auf. Vergleicht man die Organproteine mit den Serumeiweißkörpern eines Patientenserums unter vergleichbaren Krankheitsbedingungen, so scheinen wenigstens mit Bezug auf die β-Globulinfraktion gewisse Beziehungen zu bestehen.

Literatur

1. *Berg G., E. Roller* u. *H. Leisle:* Gastroenterologia *95* (1961) 88. — 2. *Götz H.* u. *F. Scheiffarth:* Klin. Wschr. *1963* (im Druck). — 3. *Götz H., G. Berg* u. *F. Scheiffarth:* Z. Immunit.forsch. *114* (1957) 72. — 4. *Götz H., F. Scheiffarth* u. *I. Dübeler:* Gastroenterologia *98* (1962) 30. — 5. *Grabar P.:* Bull. Soc. Chim. Biol. *36* (1954) 65; Dtsch. med. Wschr. *79* (1954) 1916; Zbl. Bakter. *164* (1955) 15.— 6. *Grabar P.* u. *P. Burtin:* Masson & Cie., Paris *1960.* — 7. *Grabar P.* u. *C. A. Williams:* Biochim. biophys. Acta *10* (1953) 193; Biochim. biophys. Acta *17* (1955) 67. — 8. *Hartmann F.:* Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. *63* (1957) 213. — 9. *Kessel M.:* Clin. Chim. Acta *4* (1959) 142. — 10. *Nachkov D.* u. *O. Nachkova:* Aus dem Institut d'Immunologie, Sofia *1960.* — 11. *Scheiffarth F., H. Götz* u. *F. Czagany:* Med. Welt *1961,* 1449. — 12. *Scheiffarth F., H. Götz* u. *H. Knopff:* Acta haematol. *26* (1961) 169. — 13. *Scheiffarth F., H. Götz* u. *G. Schernthaner:* Clin. Chim. Acta *6* (1961) 481. — 14. *Scheiffarth F., H. Götz* u. *G. Thuma:* Clin. Chim. Acta *7* (1962) 355. — 15. *Scheiffarth F., H. Warnatz* u. *H. Götz:* Med. Welt *1961,* 2216. — 16. *Thorbecke G. I., R. M. Asofsky, G. M. Hochwald* u. *E. B. Jacobson:* Vortrag XI. Colloquium Protides of the Biological Fluids. Brügge, Mai *1963.* — 17. *Uriel J.:* Bull. Soc. Chim. Biol. *39,* Suppl. I (1957) 105. — 18. *Uriel J.* u. *P. Grabar:* Ann. Inst. Pasteur. *90* (1956) 429. — *Uriel J., P. Grabar* u. *Ch. Wunderly:* Clin. Chim. Acta *2* (1957) 35. — 20. *Williams C. A.* u. *P. Grabar:* J. Immunol. *74* (1955) 158. — 21. *Wieme R. J.:* Arsica Uitgaven N. V. Brussel *1959;* (Proc. VIth Coll. Prot. Brugge, Mai 1958), p. 236. Elsevier Publ. Co. Amsterdam *1959.* — 22. *Wüst H., G. Berg* u. *H. Schön:* Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. *66* (1960) 216. — 23. *Licht W.:* Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. *334* (1963) 275.

Dr. H. Götz, Prof. Dr. F. Scheiffarth, Dr. G. Gast, Med. Universitätsklinik, 852 Erlangen, Krankenhausstr. 12

Lebenslauf

Am 8. April 1933 wurde ich, GERDI GAST, als zweite Tochter des Zahnarztes Dr. Albert Gast und seiner Ehefrau Elfriede, geb. Bergner, zu Lauf/Pegn. geboren.

Im Herbst 1939 trat ich in Berching/Opf. in die Volksschule und im September 1943 in die Mädchenoberschule Neumarkt/Opf. ein, die ich bis April 1945 besuchte. Nach dem Kriege, im Januar 1946, besuchte ich in Neumarkt/Opf. die Oberrealschule. Mit dem Abschluß der Mittleren Reife trat ich in einen höheren Halbjahreskurs der Hanseatischen Handelsschule in Nürnberg ein. Im August 1956 legte ich in Nürnberg die Prüfung als zahnärztliche Helferin ab. Im Frühjahr 1959 bestand ich die Prüfung zur Zulassung zum Hochschulstudium ohne Reifezeugnis beim Bay. Staatsministerium für Unterricht und Kultus in München.

Im Mai 1959 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen, wo ich im November 1961 die zahnärztliche Vorprüfung bestand. Nach den klinischen Semestern ebenfalls an der Universität Erlangen bestand ich am 3. Juli 1964 das zahnärztliche Staatsexamen.